

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

(11) N° de publication : **2 640 977**
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

(21) N° d'enregistrement national : **88 16996**

(51) Int Cl⁵ : C 07 J 31/00, 41/00, 43/00; A 61 K 31/585,
31/57, 31/58.

(12) **DEMANDE DE CERTIFICAT D'ADDITION
À UN BREVET D'INVENTION**

A2

(22) Date de dépôt : 22 décembre 1988.

(30) Priorité :

(43) Date de la mise à disposition du public de la
demande : BOPI « Brevets » n° 26 du 29 juin 1990.

(60) Références à d'autres documents nationaux appa-
rentés : 1^{re} addition au brevet 82 10205 pris le 11 juin
1982.

(71) Demandeur(s) : *ROUSSEL-UCLAF, Société anonyme à
directoire et conseil de surveillance.* — FR.

(72) Inventeur(s) : Marie-Madeleine Bouton; Lucien Nede-
lec; François Nique; Daniel Philibert; Patrick Van de
Velde.

(73) Titulaire(s) :

(74) Mandataire(s) : André Bourgoïn, Roussel-Uclaf.

(54) Nouveaux 19-nor stéroïdes substitués en 11 et leur application comme médicaments.

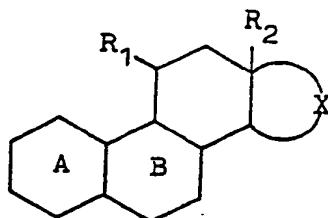
(57) La présente demande de premier certificat d'addition a
notamment pour objet, par de nouveaux exemples, la formule
générale du brevet principal.

Elle concerne notamment le produit répondant à la formule
suivante :

— 11bêta-[4-[2-(1-pyrrolidiny) éthoxy] phényl] estra-1,3,5-
(10)-triène-3,17bêta-diol
ainsi que son application comme médicament.

R 2 640 977 - A2

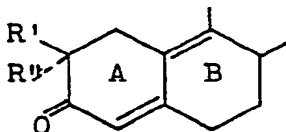
Dans sa demand de brevet principal déposée le 11 juin 1982 sous le n° 82-10205 et publiée sous le n° 2.528.434, la société demanderesse a décrit de nouveaux 19-nor stéroïdes substitués en 11-béta et éventuellement en 2 de formule générale (I) :



(I)

dans laquelle R_1 représente un radical organique renfermant de 1 à 18 atomes de carbone et éventuellement un ou plusieurs hétéroatomes, l'atome immédiatement adjacent au carbone en 11 étant un atome de carbone, R_2 représente un radical hydrocarboné renfermant de 1 à 8 atomes de carbone, X représente le reste d'un cycle pentagonal ou hexagonal éventuellement substitué et éventuellement porteur d'une insaturation, les cycles A et B ayant l'une des structures suivantes :

a) soit A et B représentent le groupement :

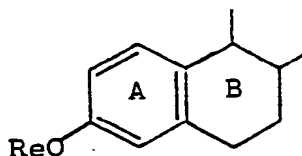


dans lequel R' et R'' identiques ou différents représentent un atome d'hydrogène, un radical nitrile ou un radical alkyle ayant de 1 à 4 atomes de carbone étant entendu que l'un au moins des radicaux R' ou R'' ne représente pas un atome d'hydrogène.

2

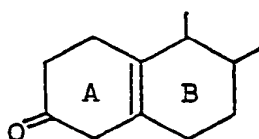
b) soit A et B représentent 1 groupement :

5



10 dans lequel Re représente un atome d'hydrogène, un radical alkyle ayant de 1 à 6 atomes de carbone ou un radical acyle.
c) soit A et B représentent le groupement :

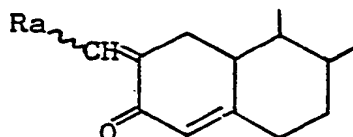
15



20

d) soit A et B représentent le groupement :

25



30

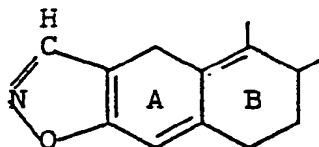
dans lequel Ra représente un radical $\begin{array}{c} \text{R}'\text{a} \\ \diagup \\ \text{-N} \\ \diagdown \\ \text{R}''\text{a} \end{array}$ dans lequel

35 R'a et R''a représentent soit un radical alkyle ayant de 1 à 4 atomes de carbone, soit R'a et R''a représentent avec l'atome d'azote auquel ils sont liés, un hétérocycle à 5 ou 6 chaînons comportant éventuellement un autre hétéroatome, ou Ra r présente un radical acyloxy, le trait ondulé signifiant que Ra

peut se trouver dans la position E ou Z.

e) soit A et B représentent le groupement :

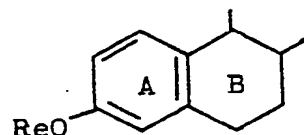
5



10

étant entendu que lorsque A et B représentent le groupement :

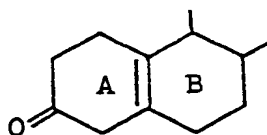
15



20

le radical R_1 contient au moins un atome d'azote, de phosphore ou de silicium, et que lorsque A et B représentent le groupement :

25



30

le radical R_1 ne représente pas un radical alkyle saturé linéaire, ainsi que les sels d'addition des produits de formule (I) avec les acides.

35

La demanderesse a également décrit un procédé de préparation de ces produits ainsi que leur application comme médicaments et les compositions pharmaceutiques renfermant ces

produits.

La présente demande de premier certificat d'addition a pour objet d'illustrer, par de nouveaux exemples, la formule générale (I) telle que figurant à la revendication 1 du brevet principal. La présente demande a également pour objet de

décrire un produit apparenté à ladite formule générale (I) du brevet principal.

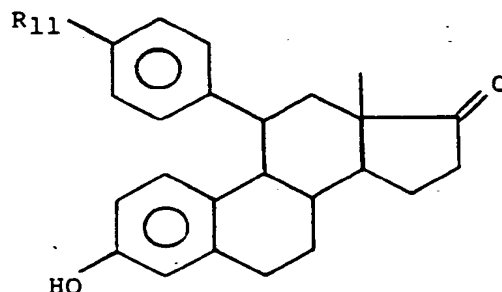
La présente demande d'addition concerne les produits suivants :

Les produits répondant à la formule générale (I) du brevet principal et dont les noms suivent :

- 11bêta-[4-(méthyl sulfonyl) phényl] estra-1,3,5(10)-triène-3,17bêta-diol.
 - 11bêta-[4-(diméthylamino) phényl] estra-1,3,5(10)-triène-3,17bêta-diol.
 - 11bêta-[4-[2-(1-pyrrolidinyl) éthoxy] phényl] estra-1,3,5(10)-triène-3,17bêta-diol.
 - 11bêta-[4-[2-(4-morpholinyl) éthoxy] phényl] estra-1,3,5(10)-triène-3,17bêta-diol.
 - 11bêta-[4-[2-(diméthylamino) éthoxy] phényl] estra-1,3,5(10)-triène-3-ol.
 - 11bêta-[4-(diméthylamino) phényl] 19-nor 17alpha-prègna-1,3,5,(10)-triène-20-yne-3,17bêta-diol.
 - 11bêta-[4-[2-(diméthylamino) éthoxy] phényl] 19-nor 17alpha-prègna-1,3,5(10)-triène-20-yne-3,17bêta-diol.
 - 11bêta-[4-[2-(diméthylamino) éthoxy] phényl] 17alpha-(1-propynyl) estra-1,3,5(10)-triène-3,17bêta-diol.
- ainsi que les produits répondant à la formule (I_{AD}) :

30

35

(I_{AD})

dans laquelle R_{11} représente un radical $\text{CH}_3\text{-S}$; $\text{CH}_3\text{-S}-\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$;

5



10

ainsi que les sels d'addition de tous les produits indiqués ci-dessus et le produit apparenté à la formule générale (I) du brevet principal répondant à la dénomination suivante :

- 15 - 11 α -[4-[2-(diméthylamino) éthoxy] phényl] estra-1,3,5-(10)-triène-3,17 β -diol ainsi que ses sels d'addition avec les acides.

L'invention objet de la présente demande de certificat d'addition a plus particulièrement pour objet le :

- 20 - 11 β -[4-[2-(1-pyrrolidiny1) éthoxy] phényl] estra-1,3,5-(10)-triène-3,17 β -diol ainsi que ses sels d'addition avec les acides.

Comme sels d'addition avec les acides, on comprend notamment les sels formés avec les acides chlorhydrique, bromhydrique, nitrique, sulfurique, phosphorique, acétique, formique, propionique, benzoïque, maléique, fumarique, succinique, tartrique, citrique, oxalique, glyoxylique, aspartique, alcane sulfoniques tels que les acides méthane ou éthane sulfoniques, arylsulfoniques, tels que les acides benzène ou paratoluène sulfoniques et arylcarboxyliques.

30

Les produits énoncés ci-dessus peuvent être préparés par les procédés décrits dans la demande principale.

Un exemple de préparation de ces produits est donné ci-après dans les exemples.

35

Les produits objets de la présente demande de premier certificat d'addition ainsi que leurs sels d'addition avec les acides pharmaceutiquement acceptables sont des produits particulièrement intéressants du point de vue pharmacologique ; ils possèdent en particulier une remarquable activité antigluco-

corticoïde comme le montrent les résultats des tests joints en annexe.

L'étude des produits sur les récepteurs hormonaux a permis de mettre en évidence des activités progestomimétiques ou anti-progestomimétiques, androgènes ou anti-androgènes.

Les produits de la présente demande de premier certificat d'addition ainsi que leurs sels peuvent également présenter des propriétés antiprolifératives, anti-estrogènes et/ou estrogènes.

Ces produits ainsi que leurs sels d'addition avec les acides pharmaceutiquement acceptables peuvent donc être utilisés comme médicaments pour lutter principalement contre les effets secondaires des glucocorticoïdes ; ils permettent de lutter également contre les troubles dus à une hypersécrétion de glucocorticoïdes et notamment contre le vieillissement en général et plus particulièrement contre l'hypertension, l'athérosclérose, l'ostéoporose, le diabète, l'obésité ainsi que la dépression de l'immunité et l'insomnie.

Ces produits ainsi que leurs sels d'addition avec les acides pharmaceutiquement acceptables, qui possèdent des propriétés antiprogestomimétiques peuvent être utilisés pour préparer des contraceptifs originaux ou comme agents d'interruption de grossesse.

Les produits objets de la présente demande de premier certificat d'addition peuvent ainsi être utilisés comme inducteurs de règles chez la femme et plus généralement chez les animaux femelles à sang chaud.

Ces produits sont alors administrés pendant les périodes où la progestérone joue un rôle physiologique essentiel, c'est-à-dire notamment pendant la phase lutéale du cycle, au moment de la nidation (ou implantation de l'embryon) et pendant la grossesse. Une méthode de contraception selon l'invention consiste à administrer à la femme un au moins des produits de formule (I) pendant 1 à 5 jours se situant préférentiellement à la fin du cycle. Ce produit est administré alors préférentiellement par la voie orale ou in vagino mais ils peuvent également être utilisés par la voie parentérale.

Les produits objets de la présente demande de premier certificat d'addition peuvent également être utilisés par la

voie endonasale.

Ces produits possédant des propriétés antiprogestomimétiques peuvent également être utilisés contre les dérèglements hormonaux et, par ailleurs, ils peuvent présenter un intérêt
5 dans le traitement des tumeurs hormonodépendantes.

Leurs actions sur les sécrétions hypophysaires rendent les produits utilisables dans la ménopause.

Ces produits peuvent également être utilisés dans la synchronisation de l'estrus chez les animaux d'élevage, en
10 particulier les bovins et les ovins.

Ces produits peuvent également être utilisés pour contrôler la fertilité des animaux familiers tels que chiens ou chats.

Les produits objets de la présente demande de premier
15 certificat d'addition ainsi que leurs sels d'addition avec les acides pharmaceutiquement acceptables peuvent également présenter des propriétés progestomimétiques et peuvent ainsi être utilisés dans le traitement des aménorrhées, des dysménorrhées et des insuffisances lutéales.

Ces produits ainsi que leurs sels d'addition avec les
20 acides pharmaceutiquement acceptables, qui présentent des propriétés anti-androgènes peuvent être utilisés dans le traitement des hypertrophies et du cancer de la prostate, de l'hyperandrogénie, de l'anémie, de l'hirsutisme et de l'acné.
25 Ils peuvent également être utilisés pour la contraception chez l'homme.

Enfin les produits objets de la présente demande de premier
30 certificat d'addition ainsi que leurs sels d'addition avec les acides pharmaceutiquement acceptables qui présentent des propriétés anti-prolifératives, anti-estrogènes et/ou estrogènes peuvent être utilisables dans le traitement des carcinomes hormono-dépendants, comme par exemple les carcinomes mammaires et leurs métastases. Ces propriétés rendent
35 ces produits ainsi que leurs sels d'addition avec les acides pharmaceutiquement acceptables également utilisables dans le traitement des tumeurs bénignes du sein.

Les propriétés estrogènes que peuvent également présenter
lesdits produits ainsi que leurs sels d'addition avec les
acides pharmaceutiquement acceptables les rendent utilisables

également dans le traitement des troubles liés à une hypofolliculinie, par exemple les aménorrhées, les dysménorrhées, les avortements répétés, les troubles prémenstruels ainsi que le traitement de la ménopause.

5 L'invention a donc pour objet, à titre de médicaments, les produits objets de la présente demande de premier certificat d'addition ainsi que leurs sels d'addition avec les acides pharmaceutiquement acceptables, c'est-à-dire non toxiques aux doses utilisées.

10 L'invention a particulièrement pour objet, à titre de médicaments, le :

- 11bêta-[4-[2-(1-pyrrolidiny) éthoxy] phényl] estro-1,3,5-(10)-triène-3,17bêta-diol ainsi que ses sels d'addition avec les acides.

15 La posologie utile varie en fonction de l'affection à traiter et de la voie d'administration ; elle peut varier par exemple de 10 mg à 1 g par jour chez l'adulte par voie orale.

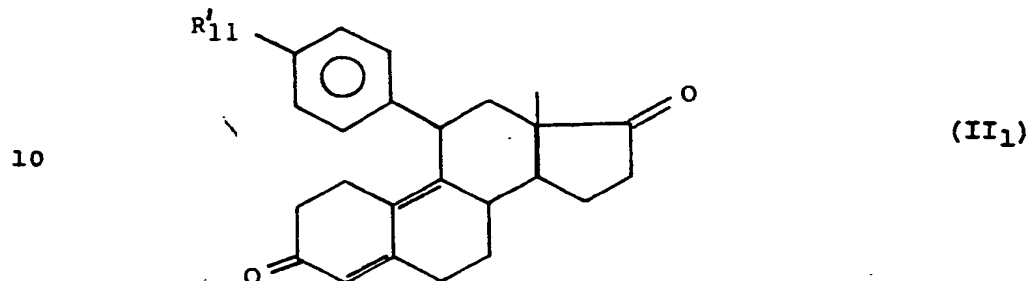
Les nouveaux produits objets de la présente demande de premier certificat d'addition et leurs sels, tels que définis
20 ci-dessus peuvent être employés pour préparer des compositions pharmaceutiques renfermant, à titre de principe actif, l'un au moins desdits produits.

Ces produits et leurs sels sont utilisés par voie digestive, parentérale ou locale. Ils peuvent être prescrits sous
25 forme de comprimés simples ou dragéifiés, de gélules, de granulés, de suppositoires, ovules, de préparations injectables, de pommades, de crèmes, de gels, lesquels sont préparés selon les méthodes usuelles.

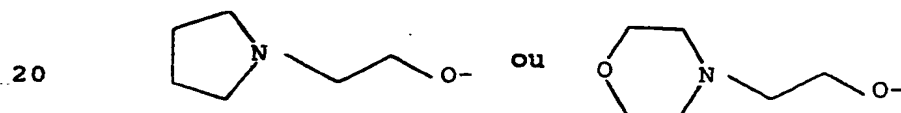
Le ou les principes actifs peuvent y être incorporés à des
30 excipients habituellement employés dans ces compositions pharmaceutiques, tels que le talc, la gomme arabique, le lactose, l'amidon, le stéarate de magnésium, le beurre de cacao, les véhicules aqueux ou non, les corps gras d'origine animale ou végétale, les dérivés paraffiniques, les glycols,
35 les divers agents mouillants, les dispersants ou émulsifiants, les conservateurs.

L'invention a donc pour objet les compositions pharmaceutiques renfermant comme principe actif au moins un produit objet de la présente demande de premier certificat d'addition.

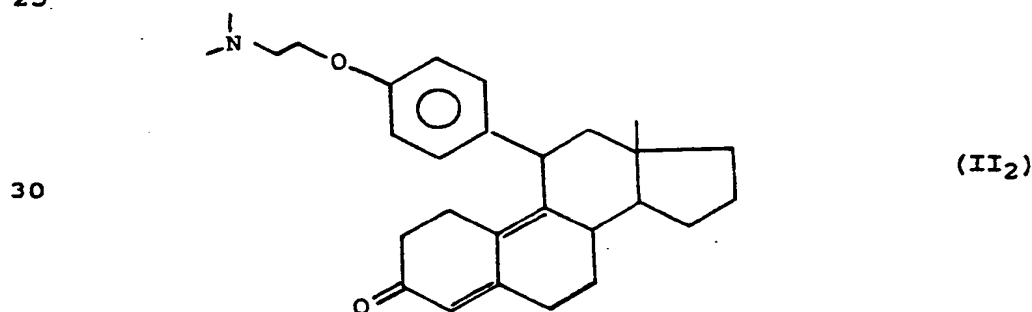
L'invention a également pour objet, à titre de produits industriels nouveaux et notamment à titre de produits intermédiaires nécessaires à la préparation des produits de formule (I), telle que définie ci-dessus, les produits répondant à la formule générale (II₁) :



15 dans laquelle R'₁₁ représente un radical CH₃-S- ;



et à la formule (II₂) :



35 Les produits de formules générales (II₁) et (II₂) répondent aux formules générales des demandes de brevets français déposées respectivement le 1er mars 1982 sous le n° 82 00338 (et publié sous le n° 2.522.328) et le 9 janvier 1981 sous le n° 81 00272 (et publié sous le n° 2.497.807).

Comme les produits décrits dans ces brevets, les produits de formules (II₁) et (II₂) sont susceptibles de présenter des propriétés pharmaceutiques intéressantes, notamment des propriétés anti-glucocorticoïdes et/ou antiprogestomimétiques.

- 5 Ces propriétés les rendent aptes aux utilisations pharmaceutiques prévues ci-dessus.

EXEMPLE 1 : 11bêta-[4-(méthyl sulfonyl) phényl] estra-1,3,5(10)-triène-3,17bêta-diol.

- 10 Stade A : 11bêta-[4-(méthylthio) phényl] estra-4,9-diène-3,17-dione.

- On agite pendant 3 heures un mélange de 3,9 g de 3-(1,2-éthanediyl) acétal cyclique de 5alpha-hydroxy 11bêta-[4-(méthylthio) phényl] estr-9-ène-3,17-dione, 80 cm³ de méthanol, 10 cm³ d'éthanol et 12 cm³ d'acide chlorhydrique 5N. Il y a dissolution. On ajoute 250 cm³ d'eau glacée, on essore, lave à l'eau puis à l'éther. On obtient 3 g de produit attendu F = 110°C.
- 15

Stade B : 3-hydroxy 11bêta-[4-(méthylthio) phényl] estra-1,3,5(10)-trièn-17-one.

- 20 A une solution refroidie à 0°C de 3 g de produit obtenu au stade A dans 70 cm³ de chlorure de méthylène on ajoute 3,5 cm³ d'anhydride acétique puis lentement 1,5 cm³ de bromure d'acétyle, en laissant revenir à température ambiante. On refroidit à 0°C et ajoute 50 cm³ d'une solution de bicarbonate de sodium, extrait avec du chlorure de méthylène et concentre à sec. On reprend la résine avec 60 cm³ de méthanol et 60 cm³ d'éthanol, ajoute 5 cm³ de soude 2N et agite pendant 1 heure à température ambiante. On concentre sous pression réduite, reprend à l'eau, neutralise avec de l'acide chlorhydrique 2N puis extrait avec du chlorure de méthylène. On chromatographie le résidu sur silice (éluant : hexane-acétate d'éthyle (1-1)). On obtient 2,1 g de produit attendu F = 252°C après cristallisation dans l'éther éthylique.
- 25
- 30

- 35 Stade C : 3-hydroxy 11bêta-[4-(méthyl sulfonyl) phényl] estra-1,3,5(10)-trièn-17-one.

A une solution refroidie à 0°C de 1,28 g de produit obtenu au stade B dans 50 cm³ de dichlor éthane on ajoute 2 g d'acide métachloroperbenzoïque. On agite quelques minutes puis ajoute 100 cm³ d'une solution saturée de thiosulfate de sodium. On

agite 15 minutes puis extrait avec du chlorure de méthylène. On lave la solution organique avec une solution saturée de bicarbonate de sodium puis concentre à sec sous pression réduite. On obtient 1,4 g de produit attendu utilisé tel quel pour le stade suivant.

Stade D : 11bêta-[4-(méthyl sulfonyl) phényl] estro-1,3,5(10)-triène-3,17bêta-diol.

A une suspension de 0,424 g de produit obtenu au stade C et 16 cm³ d'éthanol, on ajoute 0,2 g de borohydrure de sodium, on agite pendant 30 minutes puis évapore sous pression réduite. On reprend à l'eau glacée, acidifie à pH 1 avec de l'acide chlorhydrique 2N et extrait à l'acétate d'éthyle. On concentre à sec sous pression réduite et chromatographie le résidu sur silice (éluant : n-hexane-acétate d'éthyle (3-7)). On obtient 186 mg de produit attendu, cristallisé dans l'éther.

Analyse pour : C₂₅H₃₀O₄S :

	C %	H %	S %
% calculés	70,39	7,09	7,52
% trouvés	70,3	7,1	7,2

Le 3-(1,2-éthanediyl) acétal cyclique de 5alpha-hydroxy 11bêta[4-(méthylthio) phényl] estr-9(11)-ène-3,17-dione, utilisé au départ de l'exemple 1 a été préparé comme suit :

On refroidit à -6°C, 0,672 g de chlorure cuivrique, 0,212 g de chlorure de lithium, 165 cm³ de tétrahydrofurane et 16,5 g de 3-(1,2-éthanediyl) acétal cyclique de 5alpha,10alpha-époxy estr-9(11)-ène-3,17-dione et introduit, goutte à goutte en 1 heure 15 minutes, 100 cm³ d'une solution 0,75M de bromure de [4-(méthylthio) phényl] magnésium et agite à -10°C sous atmosphère inerte pendant encore 1 heure. On ajoute 100 cm³ d'une solution saturée en chlorure d'ammonium, agite 10 minutes, extrait à l'acétate d'éthyle, lave à l'eau, sèche et concentre à sec sous pression réduite. On reprend le résidu par un peu d'hexane, essore le produit cristallisé, lave à l'hexane, sèche et obtient 22,2 g de produit brut attendu. F = 202°C.

On purifie 2 g de celui-ci par chromatographie sur silice (éluant : cyclohexane-acétate d'éthyle-triéthylamine 1-1-1 %) puis par cristallisation dans l'acétate d'éthyle et obtient 0,928 g de produit purifié. F = 209°C.

EXEMPLE 2 : 11bêta-[4-(diméthylamino) phényl] estra-1,3,5(10)-triène-3,17bêta-diol.

A une solution de 1,215 g de 11bêta-[4-(diméthylamino) phényl] 17bêta-hydroxy estra-4,9-dièn-3-one décrit dans le brevet européen n° 57115, dans 12 cm³ de chlorure de méthylène, à 0°C on ajoute 1,17 cm³ d'anhydride acétique et 0,58 cm³ de bromure d'acétyle, on agite pendant 1 heure à température ambiante puis on alcalinise par addition de 30 cm³ d'une solution saturée de bicarbonate de sodium. On extrait avec de l'acétate d'éthyle, lave et évapore à sec. On dissout le diacétate obtenu dans 12 cm³ de méthanol et 6 cm³ de dioxane, on ajoute 1,2 cm³ de lessive de soude et agite pendant 1 heure à température ambiante. On acidifie à pH 2 avec de l'acide chlorhydrique 2N puis alcalinise à nouveau avec une solution saturée de bicarbonate de sodium. On extrait avec du chlorure de méthylène et évapore à sec.

On obtient 1,35 g de résidu que l'on chromatographie sur silice (éluant : benzène-acétate d'éthyle (65-35)), on obtient 528 mg de produit attendu [α]_D -39.5 ± 2° (C = 0,7 % CHCl₃) isolé de l'éther isopropylique (produit solvaté à 1 mole éther isopropylique par mole).

Analyse pour : C₂₆H₃₃NO₂, C₆H₁₄O :

	C %	H %	N %
% calculés	77,85	9,59	2,84
25 % trouvés	77,75	9,7	2,9

EXEMPLE 3 : 11bêta-[4-(diméthylamino) phényl] estra-1,3,5(10)-triène-3,17bêta-diol.

On dissout 25 g de 11bêta-[4-(diméthylamino) phényl] 3-hydroxy estra-1,3,5(10)-trièn-17-one dans 350 cm³ de méthanol puis on ajoute 2,55 g de borohydrure de sodium. On agite pendant 45 minutes puis coule dans 500 cm³ d'eau glacée, on extrait avec du chlorure de méthylène, lave à l'eau et concentre à sec sous pression réduite, la résine obtenue est chromatographiée sur silice (éluant : cyclohexane-acétate d'éthyle (1-1)). On obtient 15,7 g de produit attendu cristallisé de l'éther isopropylique.

IR CHCl₃ sur Nicolet

OH : 3602 cm⁻¹ (F) + associé

Aromatique : 1615 - 1583 - 1508 - 1501 cm⁻¹

Le 11bêta-[4-(diméthylamino) phényl] 3-hydroxy estro-1,3,5(10)-triène-17-one utilisé au départ de l'exemple 3 a été préparé comme suit :

5 Stade A : 11bêta-[4-(diméthylamino) phényl] estro-4,9-diène-3,17-dione.

On agite à température ambiante pendant 1 heure, 1 g de 3-(1,2-éthanediyl) acétal cyclique de 11bêta-[4-(diméthylamino) phényl] 5alpha-hydroxy estr-9-ène-3,17-dione, 30 cm³ d'éthanol et 5 cm³ d'acide chlorhydrique 2N.

10 On neutralise le mélange par de la triéthylamine puis concentre à faible volume. On extrait au chlorure de méthylène, sèche la phase organique, évapore à sec le solvant. On chromatographie le résidu sur silice, élue par un mélange chlorure de méthylène-acétone 95-5 et recueille 588 mg de
15 produit attendu. Celui-ci est repris dans 2 cm³ d'éther. On sépare ainsi 510 mg de produit. F = 166°C.

Stade B : 11bêta-[4-(diméthylamino) phényl] 3-hydroxy estro-1,3,5(10)-triène-17-one.

On dissout 8,9 g du produit obtenu comme précédemment dans
20 225 cm³ de méthanol, ajoute 8,9 g d'hydroxyde de palladium sur magnésie et porte au reflux pendant 1 heure. On filtre, évapore à sec le filtrat, chromatographie sur silice le résidu en (éluant : par un mélange éther-acétate d'éthyle (1-1)) + 1 % de triéthylamine. On recueille 8,9 g de résine que l'on cristallise dans un mélange acétate d'éthyle-éther isopropylique
25 et isole 5,1 g de produit attendu. F = 256°C.

EXEMPLE 4 : 11bêta-[4-[2-(1-pyrrolidinyl) éthoxy] phényl] estro-1,3,5(10)-triène-3,17bêta-diol.

30 Préparation 1 : magnésien de 2-[4-(bromophénoxy) éthyl] pyrrolidine.

a) A un mélange de 100 g de chlorhydrate de N(bêta-chloroéthyl) pyrrolidine et 170 cm³ d'éthanol à 96 % on ajoute à 20-22°C, 600 cm³ d'une solution = N de soude dans l'éthanol à 96 % puis en 30 minutes à 20-22°C, on ajoute une solution de
35 97,2 g de parabromophénol, 55 cm³ d'éthanol à 96 % et 600 cm³ d'une solution 1N de soude dans l'éthanol à 96 %. On chauffe ensuite 5 heures au reflux sous agitation. On filtre l'insoluble puis on distille à sec sous pression réduite. On reprend le résidu par 1 litre d'eau déminéralisé et 300 cm³ de chlo-

rure de méthylène, décante, lave à l'eau, sèche et évapore à sec sous pression réduite. On obtient 140 g de produit brut que l'on chromatographie sur silice (éluant : chloroforme-éthanol (7-3)). On obtient 118,5 g de 2-[4-(bromophénoxy)éthyl] pyrrolidine.

b) A une suspension de 6,5 g de magnésium en tournures et 60 cm³ de tétrahydrofuranne, on ajoute 0,2 cm³ de dibromoéthane puis 2 cm³ de la solution de réactif ci-dessous, on chauffe à 60°C puis ajoute en 1 heure à 50°C une solution de : 60,4 g de 2-[4-(bromophénoxy)éthyl] pyrrolidine (préparée ci-dessus) dans 120 cm³ de tétrahydrofuranne. On agite encore 1 heure à 50°C puis ramène à 20°C, on obtient 226 cm³ de solution de produit attendu, titrant 0,92 à 0,94 mol/litre.

Stade A : 3-(1,2-éthanediyl) acétal cyclique de 5alpha-hydroxy 11bêta-[4-[2-(pyrrolidinyl)éthoxy]phényl] estr-9-ène-3,17-dione.

On prépare une solution de 0,29 g de chlorure cuivrique et 0,09 g de chlorure de lithium dans 210 cm³ de tétrahydrofuranne à laquelle on ajoute 30 g de 3-(1,2-éthanediyl) acétal cyclique de 5alpha,10alpha-époxy-estr-9(11)-ène-3,17-dione, décrit dans le brevet européen n° 57115. On refroidit la solution à 0°C et on ajoute 220 cm³ d'une solution de magnésien de 4-bromophényl 2-éthoxy pyrrolidine (préparation 1). On agite pendant 1 heure à 0°C puis coule dans une solution de 370 g de chlorure d'ammonium dans 500 cm³ d'eau puis extrait avec du chlorure de méthylène, amène à sec sous pression réduite. On obtient 73 g de produit brut que l'on chromatographie sur silice (éluant : chlorure de méthylène-acétone-triéthylamine (70-25-5)). L'extrait sec obtenu est chromatographié une seconde fois dans les mêmes conditions. On obtient 57 g de produit attendu utilisé tel quel pour le stade suivant.

Stade B : 11bêta-[4-[2-(1-pyrrolidinyl)éthoxy]phényl] estra-4,9-diène-3,17-dione.

A une solution de 57 g (47,4 g en pur) de produit obtenu au stade A dans 475 cm³ de méthanol, on ajoute à 20-22°C, 272 cm³ d'acide chlorhydrique 2N. On agite pendant 2 heures 30 à 20-22°C puis coule dans 2 litres d'une solution saturée de bicarbonate de sodium, extrait avec du chlorure de méthylène, lave à l'eau et concentre à sec sous pression réduite. On

reprend le résidu avec 135 cm³ d'éther isopropylique pendant 30 minutes à 40°C puis 30 minutes à 0° ± 2°C. On obtient 30 g de produit brut attendu que l'on purifie par chromatographie sur silice (éluant : chlorure de méthylène-méthanol (9-1)), on obtient 20 g de produit attendu F = 220°C.

5 Analyse pour : C₃₀H₃₇NO₃ :

	C %	H %	N %
% calculés	78,39	8,11	3,05
% trouvés	78,1	8,1	2,8

10 Stade C : 3-hydroxy 11bêta-[4-[2-(1-pyrrolidinyl) éthoxy] phényl] estra-1,3,5(10)-trièn-17-one.

A une suspension de 19 g du produit obtenu au stade A dans 475 cm³ de méthanol, on ajoute 19 g d'hydroxyde de palladium à 10 % sur oxyde de magnésium. On chauffe pendant 3 heures au reflux et ramène ensuite à 20°C, filtre le catalyseur et évapore à sec sous pression réduite. Le résidu (18 g) est chromatographié sur silice (éluant : chlorure de méthylène-méthanol (9-1)). On obtient 7 g de produit attendu utilisé tel quel pour le stade suivant.

20 Variante :

1) Acétylation : 3-acétoxy 11bêta-[4-[2-(1-pyrrolidinyl) éthoxy] phényl] estra-1,3,5(10)-trièn-17-one.

A une solution de 6 g de produit obtenu au stade B de l'exemple 4 dans 60 cm³ de chlorure de méthylène on ajoute à 0°C : 4,9 cm³ d'anhydride acétique puis 2,4 cm³ de bromure d'acétyle. On ramène à 20°C et laisse agiter 1 heure à 20°C. On ajoute à 20°C, 60 cm³ d'une solution saturée de bicarbonate de sodium. On extrait au chlorure de méthylène et évapore à sec sous pression réduite, on obtient 8,46 g de produit acétylé utilisé tel quel.

30 2) Saponification : 3-hydroxy 11bêta-[4-[2-(1-pyrrolidinyl) éthoxy] phényl] estra-1,3,5(10)-trièn-17-one.

A une solution de 8,46 g de produit acétylé obtenu précédemment dans 65 cm³ de méthanol, on ajoute à 20°C, 13 cm³ de soude 2N. On agite pendant 1 heure à 20°C puis on ajoute 13 cm³ d'acide chlorhydrique 2N et 65 cm³ de chlorure de méthylène. On sépare par décantation réextrait avec du chlorure de méthylène puis évapore à sec sous pression réduite. On chromatographie le résidu (5,9 g) sur silic en éluant avec le

mélange chlorure de méthylène méthanol (8-2), on obtient 3,3 g de produit attendu utilisé tel quel pour le stade suivant.

Stade D : 11bêta-[4-[2-(1-pyrrolidiny) éthoxy] phényl] estera-1,3,5(10)-triène-3,17bêta-diol.

- 5 A une solution de 3 g de produit obtenu au stade C dans 30 cm³ de méthanol et 15 cm³ de tétrahydrofuranne, on ajoute à 20-22°C, 0,52 g d'hydroborure de sodium. On agite 1 heure à 20°C, coule dans 100 cm³ d'eau et extrait avec du chlorure de méthylène. On évapore à sec la fraction organique et on chro-
- 10 matographie le résidu (3,1 g) sur silice (éluant : acétate d'éthyle-méthylbutyléther (6-4)) à 10 % de triéthylamine. On obtient 1,4 g de résidu que l'on recristallise dans 14 cm³ d'acétate d'éthyle saturé d'eau. On obtient 1,35 g de produit attendu. F = 136°C.

- 15 Analyse pour : C₃₀H₃₉NO₃ :

	C %	H %	N %
% calculés	78,05	8,51	3,03
% trouvés	78,0	8,6	3,1

- 20 Préparation 2 : magnésien de 4-[2-(4-bromophénoxy) éthyl] morpholine.

- a) On opère comme à la préparation 1 de l'exemple 4, en utilisant 93 g de bromophénol et 100 g de chlorhydrate de N-(bêta-chloroéthyl) morpholine au lieu de chlorhydrate de N-(bêta-chloroéthyl) pyrrolidine. On obtient 153,8 g de 4-[2-(4-bromophénoxy) éthyl] morpholine.

- 25 b) Préparation du magnésien. A une suspension de 2,4 g de magnésium en tournures et 5 cm³ de tétrahydrofuranne, on ajoute en 1 heure 15 minutes à 50°C, 22,5 g de produit précédemment obtenu, en solution dans 55 cm³ de tétrahydrofuranne.
- 30 On obtient une solution 0,75N de magnésien attendu, utilisable telle quelle.

EXEMPLE 5 : 3-hydroxy 11bêta[4-[2-(4-morpholinyl) éthoxy] phényl] estera-1,3,5(10)-triène-17-one.

- 35 Stade A : 3-(1,2-éthanediyl) acétal cyclique de 5alpha-hydroxy 11bêta-[4-[2-(4-morpholinyl) éthoxy] phényl] estr-9-ène-3,17-dione.

A une solution de 67 mg de chl rure cuivrique et 21 mg de chlorure de lithium dans 66 cm³ de tétrahydrofuranne refroidie à 0°C, on ajoute 6,6 g de 3-(1,2-éthanediyl) acétal cyclique

de 5alpha,10alpha-époxy-estra-9(11)-diène-3,17-dione, décrit dans le brevet européen n° 57115. On ajoute en 2 heures à 0°C, 35 cm³ de la solution de magnésien de 4-[2-(4-bromophénoxy)éthyl] morpholine préparée ci-dessus. On agite 2 heures à 0°C.

5 On ajoute ensuite 50 cm³ d'une solution saturée de chlorure d'ammonium, extrait à l'acétate d'éthyle et évapore sous pression réduite. On chromatographie le résidu (16,1 g) sur silice (éluant : éther-triéthylamine (9-1)) pour éliminer le composé le plus mobile puis ensuite mélange (éluant : éther-triéthylamine-acétate d'éthyle (8-1-1)). On obtient 7,75 g de produit attendu utilisé tel quel pour le stade suivant.

10

Stade B : 11bêta-[4-[2-(4-morpholinyl)éthoxy]phényl]estra-4,9-diène-3,17-dione.

On agite pendant 3 heures à température ambiante, 7,75 g de produit obtenu au stade A, 100 cm³ de méthanol et 22 cm³ d'acide chlorhydrique 2N. On verse ensuite le mélange réactionnel dans 100 cm³ d'une solution saturée de bicarbonate de sodium puis dilue avec 600 cm³ d'eau, on essore le précipité (5,94 g) que l'on recristallise dans le mélange chlorure de méthylène-éther isopropylique. On obtient 4,49 g de produit attendu. F = 220-1°C.

15

20

Stade C : 3-hydroxy 11bêta-[4-[2-(4-morpholinyl)éthoxy]phényl]estra-1,3,5(10)-triène-17-one.

A une solution de 400 mg du produit obtenu au stade B, dans 20 cm³ de méthanol, on ajoute 400 mg d'hydroxyde de palladium à 10 % sur oxyde de magnésium. On chauffe au reflux que l'on maintient 45 minutes. On refroidit, filtre le catalyseur et évapore à sec sous pression réduite. On chromatographie le résidu (434 mg) sur silice (éluant : éther-acétate d'éthyle (1-1)). On obtient 342 mg de produit que l'on chromatographie à nouveau dans les mêmes conditions. On obtient 225 mg de produit attendu.

25

30

[alpha]_D -11.5 ± 1° (C = 1 % CHCl₃).

EXEMPLE 6 : 11bêta-[4-[2-(4-morpholinyl)éthoxy]phényl]estra-1,3,5(10)-triène-3,17bêta-diol.

35

A une solution de 4,49 g de produit obtenu comme au stade C de l'exemple 5, dans 50 cm³ de méthanol, on ajoute 493 mg d'hydroborure de sodium et on agit pendant 2 heures en température ambiante. On ajoute, ensuite, 3,5 cm³ d'acide

chlorhydrique au 1/2, puis on alcalinise par addition d'une solution de bicarbonate de sodium. On extrait avec de l'acétate d'éthyle et évapore à sec sous pression réduite. On chromatographie sur silice la résine obtenue (éluant : chlorure de méthylène-éthanol (95-5) à 0,5 % d'ammoniaque), on obtient 4,1 g de produit que l'on chromatographie à nouveau sur silice (éluant : acétate d'éthyle-triéthylamine (8-2)), on obtient 2,6 g de produit attendu. $F = 130^{\circ}\text{C}$ cristallisé du mélange chlorure de méthylène-éther isopropylique. Après recristallisation dans le toluène, on obtient 1,8 g de produit $F = 135^{\circ}\text{C}$.

Analyse pour : $\text{C}_{30}\text{H}_{33}\text{NO}_4$:

	C %	H %	N %
% calculés	75,43	8,23	2,93
% trouvés	74,9	8,4	2,9

EXEMPLE 7 : 11bêta-[4-[2-(diméthylamino) éthoxy] phényl] estra-1,3,5(10)-trièn-3-ol.

Stade A : 3-(1,2-éthanediyl) acétal cyclique de 17-hydrazone de 11bêta-[4-[2-(diméthylamino) éthoxy] phényl] 5alpha-hydroxy estr-9-ène-3,17-dione.

A une solution de 4,95 g de 3-(1,2-éthanediyl) acétal cyclique de 11bêta-[4-[2-(diméthylamino) éthoxy] phényl] 5alpha-hydroxy estr-9-ène-3,17-dione, préparé dans le brevet européen n° 97572, dans 25 cm³ d'éthanol à 96° et 5 cm³ de triéthylamine, on ajoute 1 cm³ d'hydrate d'hydrazine, on chauffe au reflux, après 1 heure 45 on ajoute, à la solution chaude, 4 cm³ d'hydrate d'hydrazine, on maintient 1 heure 30 au reflux puis évapore les solvants sous pression réduite, on reprend le résidu avec du chlorure de méthylène, lave à l'eau et concentre à sec sous pression réduite, on obtient 5,1 g de produit attendu que l'on utilise tel quel pour le stade suivant.

Stade B : 3-(1,2-éthanediyl) acétal cyclique de 5alpha-hydroxy 11bêta-[4-[2-(diméthylamino) éthoxy] phényl] estr-9-èn-3-one.

A une suspension de 3,88 g du produit obtenu au stade A dans 39 cm³ de toluène, on ajoute 3,4 g de terbutylate de potassium et 800 mg d'éther couronne (18-crown-6) on agite pendant 2 heures 30 au reflux, refroidit, verse sur 100 cm³ d'une solution de chlorure d'ammonium et extrait avec de

l'acétate d'éthyle. On évapore à sec et chromatographie le résidu sur silice (éluant : chlorure de méthylène-isopropanol-ammoniaque (95-5-0,5)), on obtient le produit attendu que l'on utilise tel quel pour le stade suivant.

- 5 **Stade C** : 11bêta-[4-[2-(diméthylamino) éthoxy] phényl] estra-4,9-diène-3-one.

A une solution de 2,6 g de produit obtenu au stade B, dans 25 cm³ de méthanol, on ajoute 5,4 cm³ d'acide chlorhydrique 2N et on agite 5 heures 30 à température ambiante, on distille
10 ensuite le méthanol à 30-35°C sous pression réduite, alcalinise avec du bicarbonate de sodium, extrait avec du chlorure de méthylène et évapore à sec sous pression réduite. On chromatographie le résidu (2,15 g) sur silice (éluant : cyclohexane-acétate d'éthyle-triéthylamine (6-2-2)). On obtient
15 1,62 g de produit attendu F = 136°C, cristallisé de l'éther isopropylique.

Stade D : 11bêta-[4-[2-(diméthylamino) éthoxy] phényl] estra-1,3,5(10)-triène-3-ol.

A une solution de 0,6 g de produit obtenu comme au stade C
20 dans 12 cm³ de méthanol, on ajoute 0,6 g d'hydroxyde de palladium sur magnésie et on agite pendant 1 heure 30 au reflux. On filtre le catalyseur et évapore à sec le filtrat. On chromatographie le résidu (0,65 g) sur silice (éluant : acétate d'éthyle-triéthylamine (95-5)), on obtient 0,325 g de produit
25 attendu.

F = 172°C recristallisé de l'éthanol aqueux.

Analyse pour : C₂₈H₃₇NO₂ :

	C %	H %	N %
% calculés	79,49	8,96	3,30
30 % trouvés	79,5	9,0	3,1

EXEMPLE 8 : 11alpha-[4-[2-(diméthylamino) éthoxy] phényl] estra-1,3,5(10)-triène-3,17bêta-diol.

Stade A : Diméthyl acétal du 5bêta,10bêta-époxy-17bêta-hydroxy estr-9(11)-èn-3-one.

35 A une suspension de 10 g de 3-diméthyl acétal d'estra-5(10),9(11)-diène-3,17-dione (décrit dans le brevet français n° 1.514.086), dans 100 cm³ de méthanol, on ajoute à 15-20°C : 2,5 g de borohydrure de sodium, agite pendant 1 heure, distille à sec, reprend à l'eau et extrait chlorure de méthylène.

On évapore à sec, on obtient 7,8 g de 17bêta-hydroxy intermédiaire. A une solution de 7,15 g de l'intermédiaire obtenu dans 70 cm³ de chlorure de méthylène à 1 % de pyridine, on ajoute à 0°C, 1,3 cm³ de sesquihydrate d'hexafluoro acétone et 2,6 cm³ d'eau oxygénée à 50 %. On agite pendant 26 heures à 0°C puis ajoute un excès de thiosulfate de sodium, décante, lave à l'eau, évapore à sec. On chromatographie le résidu (7,9 g) sur silice, (éluant : cyclohexane-acétate d'éthyle (6-4)) à 1 % de triéthylamine. On obtient le produit attendu que l'on utilise tel quel pour le stade suivant.

Stade B : Diméthyl acétal du 5bêta,17bêta-dihydroxy 11alpha-[4-[2-(diméthylamino) éthoxy] phényl] estr-9-èn-3-one.

A une suspension de 100 mg de chlorure cuivreux dans 4 cm³ de tétrahydrofuranne, on ajoute à 20°C, 12,7 cm³ de magnésien de 4-[2-(diméthylamino) éthoxy] bromobenzène en solution 0,57M dans le tétrahydrofuranne, préparée comme ci-dessous, on refroidit à 0° + 5°C et ajoute en 20 minutes une solution de 600 mg de produit obtenu au stade A dans 6 cm³ de tétrahydrofuranne. On agite pendant 19 heures à température ambiante, on ajoute une solution de chlorure d'ammonium, extrait avec de l'acétate d'éthyle et évapore à sec sous pression réduite. On chromatographie le résidu 2,2 g sur silice (éluant : acétate d'éthyle-triéthylamine (8-2)), on obtient 680 mg de produit attendu. F = 136°C.

Stade C : 11alpha-[4-[2-(diméthylamino) éthoxy] phényl] 17bêta-hydroxy estra-4,9-dièn-3-one.

A une solution de 650 mg de produit obtenu au stade B dans 10 cm³ de méthanol on ajoute 2 cm³ d'acide chlorhydrique 2N et agite pendant 1 heure 30 à 20°C. On neutralise ensuite avec une solution de bicarbonate de sodium, extrait à l'acétate d'éthyle et évapore à sec sous pression réduite. On chromatographie le résidu (560 mg), sur silice (éluant : acétate d'éthyle-triéthylamine (8-2)). On obtient 335 mg de produit attendu utilisé tel quel pour le stade suivant.

Stade D : 11alpha-[4-[2-(diméthylamino) éthoxy] phényl] estra-1,3,5(10)-triène-3,17bêta-diol.

A une solution de 310 mg de produit obtenu au stade C, dans 10 cm³ de méthanol, on ajoute 620 mg d'hydroxyde de palladium sur magnésie. On agit au reflux pendant 3 heures

puis refroidit et filtre le catalyseur. On évapore à sec sous pression réduite, on chromatographie le résidu (290 mg) sur silice (éluant : acétate d'éthyle-triéthylamine (8-2)), on obtient 115 mg de produit attendu.

5 Analyse pour : $C_{28}H_{37}NO_3$:

	C %	H %	N %
% calculés	77,20	8,56	3,22
% trouvés	77,1	8,6	3,3

Préparation 3 magnésien de 4-[2-(diméthylamino) éthoxy] bromobenzène.

10 A un mélange de 34,6 g de bromophénol et 20 cm³ d'éthanol à 95 %, on ajoute, à température ambiante, 200 cm³ d'une solution N de soude éthanolique. On ajoute ensuite un mélange de 28,8 g de chlorhydrate de 1-diméthylamino 2-chloro éthane, 15 60 cm³ d'éthanol 95 % auquel on ajoute une solution N de soude éthanolique. On chauffe jusqu'au reflux que l'on maintient 24 heures, on filtre l'insoluble, lave à l'éthanol et évapore sous pression réduite. Le résidu est repris à l'eau puis 20 extrait à l'éther. On évapore à sec sous pression réduite puis purifie par distillation Eb 70-72°C sous 0,1 mbar.

On introduit, en 1 heure, une solution de 97,4 g du 4-[2-(diméthylamino) éthoxy] bromobenzène, obtenu comme ci-dessus, dans 480 cm³ de tétrahydrofuranne sur le mélange agité à 35°C de 11,5 g de magnésium en tournures et 20 cm³ de tétra- 25 hydrofuranne. On agite encore 1 heure à 35°C puis refroidit, on obtient une solution titrant 0,57-0,6 mol/litre.

EXEMPLE 9 : 11bêta-[4-(diméthylamino) phényl] 19-nor 17alpha-prègna-1,3,5,(10)-trièn-20-yne-3,17bêta-diol.

A une solution de 500 mg de 11bêta-(4-diméthylamino) 30 phényl-17bêta-hydroxy 19-nor 17alpha-prègna-4,9-dièn-3-one (préparé selon EP 0.0057.115) dans 3 cm³ de chlorure de méthylène on ajoute à 0°C, 0,45 cm³ d'anhydride acétique et 0,25 cm³ de bromure d'acétyle. On agite pendant 1 heure à 0°C puis on verse dans une solution aqueuse de bicarbonate de sodium et 35 extrait avec du chlorure de méthylène. On amène à sec, sous pression réduite, la fraction organique et dissout le résidu dans 20 cm³ de méthanol. On ajoute 2 cm³ de lessive de soude et agite 2 heures. On verse la solution dans 200 cm³ d'eau contenant 15 cm³ d'acid chlorhydrique 2N. On extrait avec du

chlorure de méthylène, après évaporation à sec sous pression réduite, le résidu est chromatographié sur silice (éluant : chlorure de méthylène-acétate d'éthyle (9-1)). On obtient 300 mg de produit que l'on recristallise dans le mélange

5 chlorure de méthylène-éther isopropylique, on recueille 165 mg de produit recherché.

F = 260°C.

$[\alpha]_D = -162.5 \pm 3.5$ (c = 0,6 % CHCl₃)

Analyse pour C₂₈H₃₃NO₂ :

10		C %	H %	N %
	% calculés	80,92	8,00	3,37
	% trouvés	81,0	8,1	3,4

EXEMPLE 10 : 11bêta-[4-[2-(diméthylamino) éthoxy] phényl] 19-nor 17alpha-prègna-1,3,5(10)-trièn-20-yne-3,17bêta-diol.

15 On prépare une suspension d'acétylure de potassium en diluant 15 cm³ d'une solution 2M de terbutylate de potassium dans le tétrahydrofuranne avec 50 cm³ de tétrahydrofuranne et en y faisant barboter de l'acétylène pendant 2 heures (titre par acidimétrie = 0,53 M). 30,5 cm³ de la suspension d'acétylure sont ajoutés à une solution de 1,75 g de 3-hydroxy-

20 11bêta-[4-[2-(diméthylamino) éthoxy] phényl] estra-1,3,5(10)-trièn-17-one (préparé selon EP 0.0097.572). On agite pendant deux heures à température ambiante puis verse dans l'eau et acidifie avec de l'acide chlorhydrique N jusqu'à pH 1. On

25 alcalinise ensuite le milieu avec une solution saturée de bicarbonate de sodium et extrait avec de l'acétate d'éthyle. On évapore à sec sous pression réduite. On chromatographie le produit brut (1,7 g) sur silice (éluant : chlorure de méthylène-méthanol-ammoniaque (90-10-0,5)). On recueille

30 1,516 g de produit que l'on recristallise par dissolution dans le chlorure de méthylène, ajout d'éther isopropylique et concentration à petit volume. On obtient 1 g de produit recherché.

$[\alpha]_D = -126. \pm 2. (C = 0,7 \% CHCl_3).$

35 IR (CHCl₃) :

OH	3598	cm ⁻¹
C \equiv C-H	3598	cm ⁻¹
C \equiv C	2100	cm ⁻¹
aromatique 1609 - 1589 - 1511 cm ⁻¹		

bandes de Bohlmann.

Analyse pour $C_{30}H_{37}NO_3$

	C %	H %	N %
% calculés	78,4	8,11	3,05
5 % trouvés	78,4	8,3	3,0

EXEMPLE 11 : 11bêta-[4-[2-(diméthylamino) éthoxy] phényl]
17alpha-(1-propynyl) estra-1,3,5(10)-triène-3,17bêta-diol.

Dans une solution de 7,7 cm³ de solution 1,8 M de bromure
d'éthyle magnésium dans l'éther et 40 cm³ de tétrahydrofu-
10 ranne, on fait barboter du méthylacétylène pendant 1 heure à
0°C, puis 1 heure à température ambiante. On ajoute ensuite
une solution de 2 g de 3-hydroxy-11bêta-[4-[2-(diméthylamino)
éthoxy] phényl] estra-1,3,5(10)-triène-17-one (préparation
décrite dans EP 0.0097.572) dans 10 cm³ de tétrahydrofuranne,
15 on agite pendant 2 heures 30 à température ambiante puis coule
le mélange réactionnel dans une solution de chlorure d'ammo-
nium et de glace, on extrait avec de l'acétate d'éthyle et
évapore à sec sous pression réduite. On chromatographie le
résidu (2,1 g) sur silice (éluant : chlorure de méthylène-
20 méthanol-ammoniaque (90-10-0,5)). On obtient 1,95 g de produit
attendu que l'on recristallise dans l'éthanol pour obtenir 1,6
g de produit recherché. F = 194°C.

$[\alpha]_D = -182.5 \pm 3^\circ$ (C = 1% CHCl₃).

IR (CHCl₃) :

25 Aromatiques 1610-1581-1510 - 1500 cm⁻¹
-C = C- 2245 cm⁻¹

Analyse pour : $C_{31}H_{39}NO_3$

	C %	H %	N %
% calculés	78,6	8,30	2,96
30 % trouvés	78,5	8,5	2,8

EXEMPLE 12 : Compositions pharmaceutiques.

On a préparé des comprimés répondant à la formule
suivante :

- Produit de l'exemple 4 50 mg
35 - Excipient (talc, amidon, stéarate de magnésium)
q.s.p. un comprimé terminé à 200 mg

Etude pharmacologique des produits de l'invention.

1) Etude de l'activité des produits de l'invention sur les
récepteurs hormonaux :

Récepteur glucocorticoïde du thymus de rat :

Des rats mâles Sprague Dawley EOPS de 160 à 200 g sont surrénalectomisés. 4 à 8 jours après cette ablation, les animaux sont sacrifiés, et les thymus sont prélevés et homogénéisés à 0°C dans un tampon Tris 10mM, saccharose 0,25 M, dithiothreitol 2mM, CH1 pH 7,4 ; à l'aide d'un Potter polytétrafluoroéthylène-verre (1 g de tissu pour 10 ml de TS). L'homogénat est ensuite ultracentrifugé (105 000 g x 90 mn) à 0°C. Des aliquotes du surnageant ainsi obtenu, sont incubées à 0°C pendant un temps (t) avec une concentration constante (T) de dexaméthasone tritiée en présence de concentrations croissantes ($0 - 2.500.10^{-9}M$) soit de dexaméthasone froide, soit du produit froid à tester. La concentration de la dexaméthasone tritiée liée (B) est ensuite mesurée dans chaque incubat par la technique d'adsorption au charbon-destan.

Récepteur estrogène de l'utérus de souris :

Des souris femelles impubères âgées de 18 à 21 jours sont sacrifiées, les utérus sont prélevés puis homogénéisés à 0°C à l'aide d'un Potter teflon-verre dans une solution tamponnée TS Tris 10mM, saccharose 0,25 M, HCl pH 7,4 (1 g de tissu pour 25 ml de TS). L'homogénat est ensuite ultra-centrifugé (105 000 g x 90 mn) à 0°C. Des aliquotes du surnageant ainsi obtenu, sont incubées à 0°C ou à 25°C pendant un temps (t) avec une concentration constante (T) d'estradiol tritié en présence de concentrations croissantes ($0 - 1000.10^{-9}M$) soit d'estradiol froid, soit du produit froid à tester. La concentration d'estradiol tritié lié (B) est ensuite mesurée dans chaque incubat par la technique d'adsorption au charbon-dextran.

Calcul de l'affinité relative de liaison :

Le calcul de l'affinité relative de liaison (ARL) est identique pour tous les récepteurs.

On trace les 2 courbes suivantes : le pourcentage de l'hormone tritiée liée $\frac{B}{T}$ en fonction du logarithme de la

concentration de l'hormone de référence froide et $\frac{B}{T}$

fonction du logarithme de la concentration du produit froid testé.

On détermine la droite d'équation $I_{50} = \frac{(B_{\max} + B_{\min})}{2T}$.

B_{\max} = Pourcentage de l'hormone tritiée liée pour une incubation de cette hormone tritiée à la concentration (T).

5 B_{\min} = Pourcentage de l'hormone tritiée liée pour une incubation de cette hormone tritiée à la concentration (T) en présence d'un grand excès d'hormone froide ($2500 \cdot 10^{-9}M$).

10 Les intersections de la droite I_{50} et des courbes permettent d'évaluer les concentrations de l'hormone de référence froide (CH) et du produit froid testé (CX) qui inhibent de 50 % la liaison de l'hormone tritiée sur le récepteur.

15 L'affinité relative de liaison (ARL) du produit testé est déterminée par l'équation $ARL = 100 \frac{(CH)}{(CX)}$

Les résultats obtenus sont les suivants :

20	Temps d'incubation	Glucocorticoïde		Estrogène	
	Produits des exemples	4H	24H	2H	5H
25	EX. 1	3	0,8	22	10
	EX. 2 et 3	39	10	19	6
	EX. 4	4	0,7	47	109
	EX. 5	5	1,5	21	26
	EX. 6	11	2,5	29	71
30	EX. 8	0,4	0,1	5	12

2) Activité anti-proliférative des produits sur la croissance de cellules tumorales mammaires MCF-7.

35 Description du test :

a) Culture cellulaire :

Les lignées MCF-7 sont maintenues en culture en milieu SVF(1) à 37°C en atmosphère humide contenant 5 % CO₂. Les cellules à subconfluence sont récoltées par trypsination

(trypsine 0,05 %, EDTA 0,02 %) puis rincées par centrifugation douce. Un échantillon des cellules en suspension est compté sur cellule de Malassez.

b) Etude de la croissance :

5 Les cellules resuspendues dans le milieu SVF sont ensemencées à raison de 30.000 cellules par puits dans des plaques multipuits (24 puits de 2,5 cm²). Vingt quatre heures après l'ensemencement (J0), le produit à tester est ajouté au milieu en solution éthanolique (concentration finale en éthanol :
10 0,1 %), la concentration de 10⁻⁵M, les puits contrôles recevant la même concentration en éthanol. Les milieux sont renouvelés toutes les 48 heures. En fin d'expérience (J6), le milieu est aspiré et les cellules sont immédiatement fixées par 150 microlitres de méthanol afin de doser l'ADN.

15 L'activité anti-proliférative des produits est évaluée par leur capacité à inhiber l'augmentation d'ADN.

c) Dosage de l'ADN :

L'ADN est dosé par une méthode fluorimétrique utilisant le DABA (Acide 3,5 diaminobenzoïque) (2) 150 microlitres de DABA
20 sont ajoutés dans chaque puits ; les plaques sont alors incubées 45 mn à 56°C, puis 1,5 ml d'HCL 1N sont ajoutés. La fluorescence est mesurée à l'aide d'un fluorimètre (longueur excitatrice : 400 nanomètres, longueur d'onde d'émission : 500 nanomètres).

25 La quantité d'ADN par puits est évaluée par rapport à une gamme étalon obtenue en traitant dans les mêmes conditions un standard d'ADN de thymus de veau.

Résultats :

30 La concentration en M qui inhibe de 50 % la croissance des cellules MCF₇ (CI₅₀) a été déterminée de la manière indiquée ci-dessus pour les produits des exemples 1 et 4 à 8. On a obtenu les résultats suivants :

Produit de l'exemple 1 : CI₅₀ = 2.10⁻⁹M.

Produit de l'exemple 4 : CI₅₀ = 4.10⁻¹¹M.

35 Produit de l'exemple 5 : CI₅₀ = 10⁻⁹M.

Produit de l'exemple 6 : CI₅₀ = 4.10⁻¹¹M.

Produit de l'ex mple 7 : CI₅₀ = 8.10⁻¹¹M.

Produit de l'exemple 8 : CI₅₀ = 5.10⁻⁹M.

(1) Le milieu de culture sérum de veau f etal (SVF) est pré-

paré comme suit :

Milieu MEM (Minimal Essential Medium) auquel sont ajoutés :

- acides aminés non essentiels (GIBCO),
- péni-strepto (pénicilline 100 U/ml, streptomycine

5 0,1 mg/ml),

- fungizone 0,1 %,

- insuline (5 nanogrammes/ml),

- sérum de veau foetal (4 % concentration finale).

10 (2) Puzas et Goodman, Analytical Biochemistry, Vol. 86,
pp. 50, 1978.

Compositions pharmaceutiques

On a préparé des comprimés répondant à la formule suivante :

- Produit de l'exemple 4 50 mg

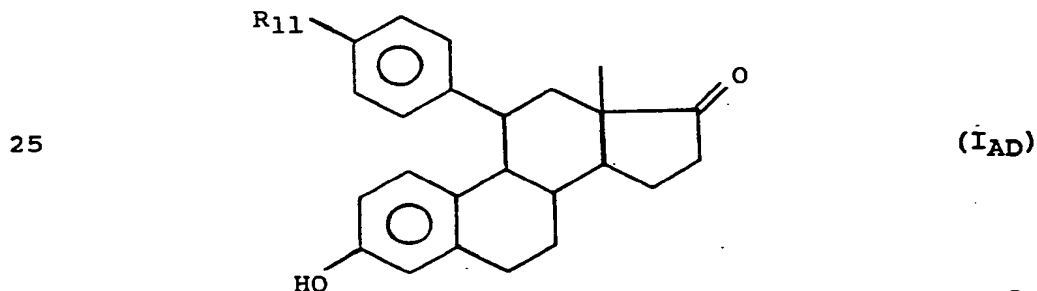
Excipient (talc, amidon, stéarate de magnésien)

15 q.s. pour un comprimé terminé à 120 mg

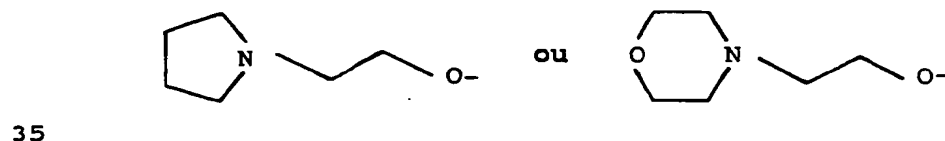
REVENDECATIONS

1) Les produits répondant à la formule générale (I) du brevet principal et dont les noms suivent :

- 11bêta-[4-(méthyl sulfonyl) phényl] estra-1,3,5(10)-triène-3,17bêta-diol.
 - 11bêta-[4-(diméthylamino) phényl] estra-1,3,5(10)-triène-3,17bêta-diol.
 - 11bêta-[4-[2-(1-pyrrolidiny) éthoxy] phényl] estra-1,3,5(10)-triène-3,17bêta-diol.
 - 11bêta-[4-[2-(4-morpholiny) éthoxy] phényl] estra-1,3,5(10)-triène-3,17bêta-diol.
 - 11bêta-[4-[2-(diméthylamino) éthoxy] phényl] estra-1,3,5(10)-triène-3-ol.
 - 11bêta-[4-(diméthylamino) phényl] 19-nor 17alpha-prègna-1,3,5,(10)-triène-20-yne-3,17bêta-diol.
 - 11bêta-[4-[2-(diméthylamino) éthoxy] phényl] 19-nor 17alpha-prègna-1,3,5(10)-triène-20-yne-3,17bêta-diol.
 - 11bêta-[4-[2-(diméthylamino) éthoxy] phényl] 17alpha-(1-propynyl) estra-1,3,5(10)-triène-3,17bêta-diol.
- ainsi que les produits répondant à la formule (I_{AD}) :



30 dans laquelle R₁₁ représente un radical CH₃-S ; $\text{CH}_3-\text{S}-\text{O}-\text{SO}_2-\text{O}-$;



ainsi que les sels d'addition de tous les produits indiqués ci-dessus.

2) Le produit apparenté à la formule générale (I) du brevet principal répondant à la dénomination suivante :

- 11alpha-[4-[2-(diméthylamino) éthoxy] phényl] estro-
1,3,5(10)-triène-3,17bêta-diol ainsi que ses sels d'addition
avec les acides.

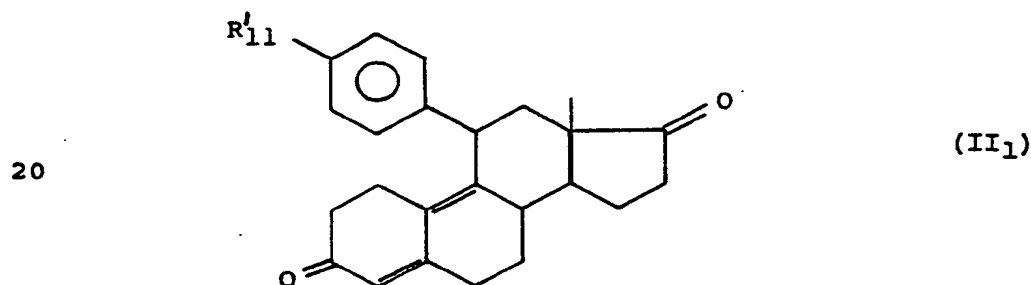
3) Le produit selon la revendication 1 répondant à la dénomi-
5 nation suivante :

- 11bêta-[4-[2-(1-pyrrolidiny)l éthoxy] phényl] estro-
1,3,5(10)-triène-3,17bêta-diol ainsi que ses sels d'addition
avec les acides.

4) A titre de médicaments, les produits tels que définis à
10 l'une quelconque des revendications 1 à 3 pharmaceutiquement
acceptables.

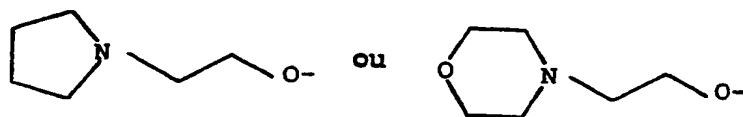
5) Les compositions pharmaceutiques renfermant, comme principe
actif au moins un médicament défini à la revendication 4.

6) A titre de produits industriels nouveaux, les produits
15 répondant à la formule suivante (II₁) :



dans laquelle R'₁₁ représente un radical CH₃-S- ;

25



30 et à la formule (II₂) :

